

**MINISTERIE VAN LANDBOUW**

Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek

Kommissie voor Toegepast Wetenschappelijk Onderzoek

in de Zeevisserij (T.W.O.Z.)

(Voorzitter : F. LIEVENS, directeur-generaal)

---

**STUDIE VAN DE MICROBICIDE EN DE ANTIOXIDATIEVE  
EIGENSCHAPPEN VAN FENOLEN BIJ HARDGEZOUTEN  
GEROOKTE HARING**

D. DECLERCK.

Onderwerkgroep „Visverwerkende Bedrijven - Voorverpakking Vis” (I.W.O.N.L.)

---

Mededelingen van het Rijksstation voor Zeevisserij (C.L.O. Gent)

Publikatie nr 41 - VB/9/1970.

MINISTERIE VAN LANDBOUW

---

Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek

**Met vriendelijke groeten vanwege het**

RIJKSSTATION VOOR ZEEVISSERIJ

Rijkscentrum voor Landbouwkundig Onderzoek

Gent

Directeur : Dr. P. HOVART

Stadhuis (4de verdieping), 8400 Oostende

**MINISTERIE VAN LANDBOUW**

Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek

Kommissie voor Toegepast Wetenschappelijk Onderzoek

in de Zeevisserij (T.W.O.Z.)

(Voorzitter : F. LIEVENS, directeur-generaal)

---

62765

**STUDIE VAN DE MICROBICIDE EN DE ANTIOXIDATIEVE  
EIGENSCHAPPEN VAN FENOLEN BIJ HARDGEZOUTEN  
GEROOKTE HARING**

D. DECLERCK.

Onderwerkgroep „Visverwerkende Bedrijven - Voorverpakking Vis " (I.W.O.N.L.)

---

Mededelingen van het Rijksstation voor Zeevisserij (C.L.O. Gent)

Publikatie nr 41 - VB/9/1970.

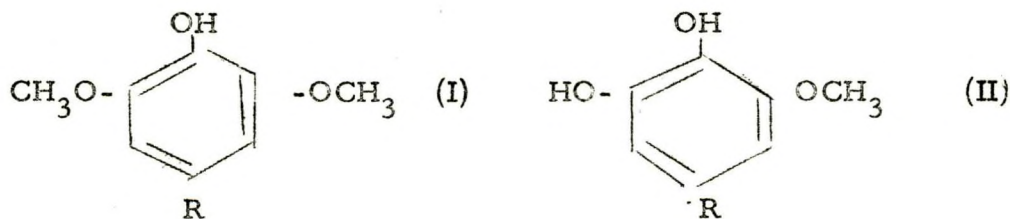


## INLEIDING.

De conserverende invloed van het rookproces berust hoofdzakelijk op de onttrekking van water aan het produkt. Er blijkt nochtans ook dat de rookbestanddelen zelf, met name o.m. door de fenolvorming, een niet onbelangrijke bijdrage tot de conservering van het produkt vormen.

Dit werd voor het eerst voor licht gezouten produkten genoteerd (Kochanowski) (1) (Shewan) (2). De vraag mag dan ook worden opgeworpen of dit ook voor hardgezouten produkten geldt en in het bijzonder kan dan worden uitgezien welke microbicide en antioxidatieve eigenschappen de fenolen bij deze produkten hebben.

Door het Torrey Research Station (3) werd vastgesteld dat volgende fenolen voor de bactericide werking verantwoordelijk zijn : 2,6-dimethoxyfenol (I), 2-methoxy-6-hydroxyfenol (II) en enkele enkele homologen van deze verbinding.



(R = H,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5$ , of  $\text{C}_3\text{H}_7$ )

(R = H,  $\text{CH}_3$  of  $\text{C}_2\text{H}_5$ )

Met betrekking tot de antioxidatieve eigenschappen van de rook wordt algemeen aangenomen dat een aantal fenolen voor deze werking verantwoordelijk is. Merkwaardiger wijze zijn het dezelfde stoffen waaraan een sterke microbicide werking wordt toegeschreven. De antioxydatieve werking van deze verbindingen kan dan ook worden vergeleken met die van het bekende antioxidans BHT (Kurko) (4).

Onderhavige studie brengt een bijdrage tot het onderzoek omtrent de microbicide en de antioxidatieve eigenschappen van fenolen bij hardgezouten gerookte haring.

## 1. MATERIAAL EN METHODEN.

Als grondstof voor het onderzoek werd gesorteerde verse haring van de gewichtsklasse 180-210 gram aangewend.

Na het droogzouten, dat 5 dagen duurde, werd de hardgezouten haring in een tijdspanne van 24 uur, viermaal gewassen. De hardgezouten haring werd in een experimentele rooktunnel van het type "Torry Research Station" opgehangen.

Het rookproces bestond uit een korte droogperiode met een warm luchtrookmengsel ; de temperatuur werd langzaam tot 40°C opgedreven om nadien onmiddellijk tot 28°C te worden verlaagd.

De rookperiode duurde 5 uur bij een temperatuur van 28°C. Het temperatuurverloop gedurende het rook- en droogproces wordt in figuur 1 uitgezet.

Gedurende het rookproces werden na 1, 2, 3, 4, 5, en 6 uur telkens 100 haringen uit de rooktunnel gehaald.

De koudgerookte haringen werden daarna afzonderlijk in een koelruimte bij 2°C bewaard.



Aan de hand van een reeks objectieve kwaliteitsbepalingen werd de houdbaarheid van de verschillende partijen hardgezouten gerookte haring, in functie van het fenolisch gehalte op de huid en het visvlees, nagegaan.

Het totaal aantal bacteriën of T.A.B. werd bepaald volgens een techniek op punt gesteld door Debevere (5).

Voor de bepaling van de totale vluchtige basische stikstofbestanddelen of T.V.B. werd de methode van Lücke en Geidel (6) gevolgd ; hierbij werd echter de stoomdestillatie-apparatuur van Antonacopoulos (7) gebruikt.

Het trimethylamine of T.M.A. werd gedoseerd aan de hand van de picraatmethode van Dyer (8), maar dan op het destillaat van de T.V.B.

De stoomdestillatie op het ranzig produkt, bij zure pH, voorgesteld door Tarladgis (9), werd eveneens weerhouden. Deze destillatie laat toe het thiobarbituurgetal of T.B.Z.-getal te bepalen.

Aan de onderzoeken werd eveneens een technologische studie gekoppeld, teneinde het vochtverlies, dezout- en de vetveranderingen en de kleurafzetting te kunnen nagaan.

De drogestofbepaling geschiedde volgens de methode van de A.O.A.C.

Voor de zoutdosering werd de methode van Volhard (10) gebruikt .

Voor de vetdosering werd beroep gedaan op een gewijzigde Gerber-methode die in het laboratorium op punt werd gesteld. Deze methode is als volgt : drie gram homogeen gemalen visvlees wordt nauwkeurig in een melkbutyrometer afgewogen ; de butyrometer wordt met zwavelzuur 70 % gevuld en 1 ml amylalkohol wordt toegevoegd ; na het stoppen wordt de butyrometer gedurende 1 uur in een waterbad op 70°C gedompeld en na 10 minuten centrifugeren wordt het vet afgelezen en berekend.

Met betrekking tot de kleurafzetting op de huid en het visvlees werden twee methoden aangewend, nl. de fenolbepaling volgens Folin-Ciocalteu (11), Miller, G. L. (12), Rieder H. P. (13), waarbij alle fenolen worden bepaald en de 4-aminoantipyrinemethode volgens Snell F. D. en G. T. Snell (14), waarbij alleen de paraongesubstitueerde fenolen worden gedoseerd.

In het onderzoek werd de kleur echter bepaald op het destillaat dat door middel van de stoomdestillatieapparatuur van Antonacopoulos wordt verkregen. Het af te destilleren mengsel werd vooraf aangezuurd tot pH = 1, om storende elementen als T. M. A., in het destillaat te vermijden.

## 2. RESULTATEN EN BESPREKINGEN.

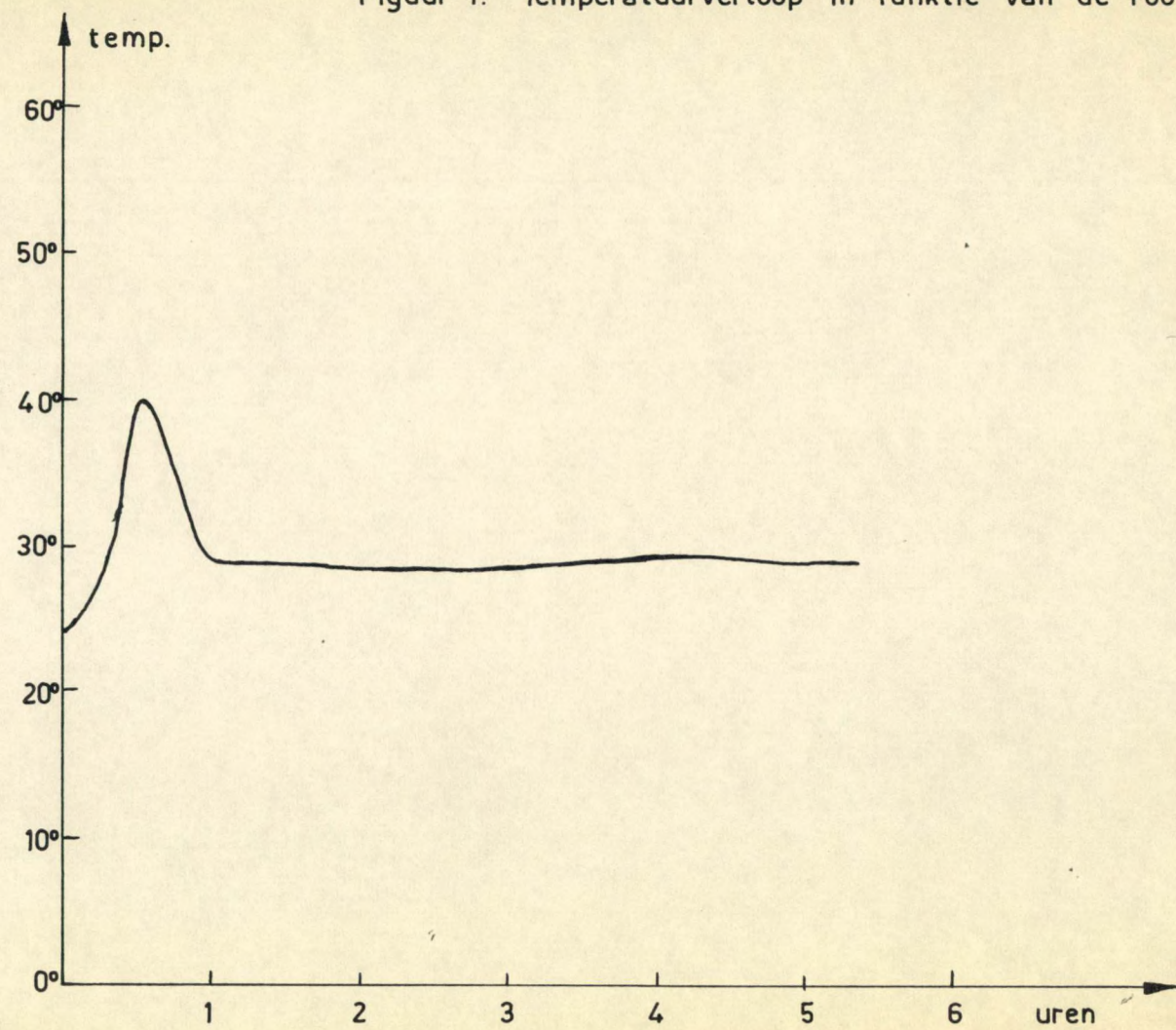
### 2.1. Technologisch onderzoek.

Gedurende het roken werden de gewichtsverliezen in functie van de rooktijd genoteerd. De resultaten zijn in tabel 1 opgenomen. Er blijkt, dat na 6 uur het gewichtsverlies 9,1 % bedroeg.

Van de drooggezouten, de gewassen en de gerookte haring werd het zoutgehalte bepaald. Na het droogzouten beliep het gemiddeld procentueel zoutgehalte 13,9 %, na het wassen 7,3 % en na een rookproces van 6 uur 7,7 %.



Figuur 1. Temperatuurverloop in functie van de rookduur





Als gemiddel procentueel vetgehalte werd voor de drooggezouten haring 17,59 % bekomen. Na het beëindigen van het rookproces was het procentuele vetgehalte nog 15,85 %.

De resultaten van de fenolbepalingen in het visvlees en op de huid worden in de tabellen 2 en 3 vermeld en zijn in de grafieken 2 en 3 uitgezet.

Tabel 1. - Procentuele gewichtsverliezen in functie van de rookduur.

Rooktijd	1 uur	2 uur	3 uur	4 uur	5 uur	6 uur
Procentueel gewichtsverlies	5,2	6,4	6,78	7,71	8,26	9,12

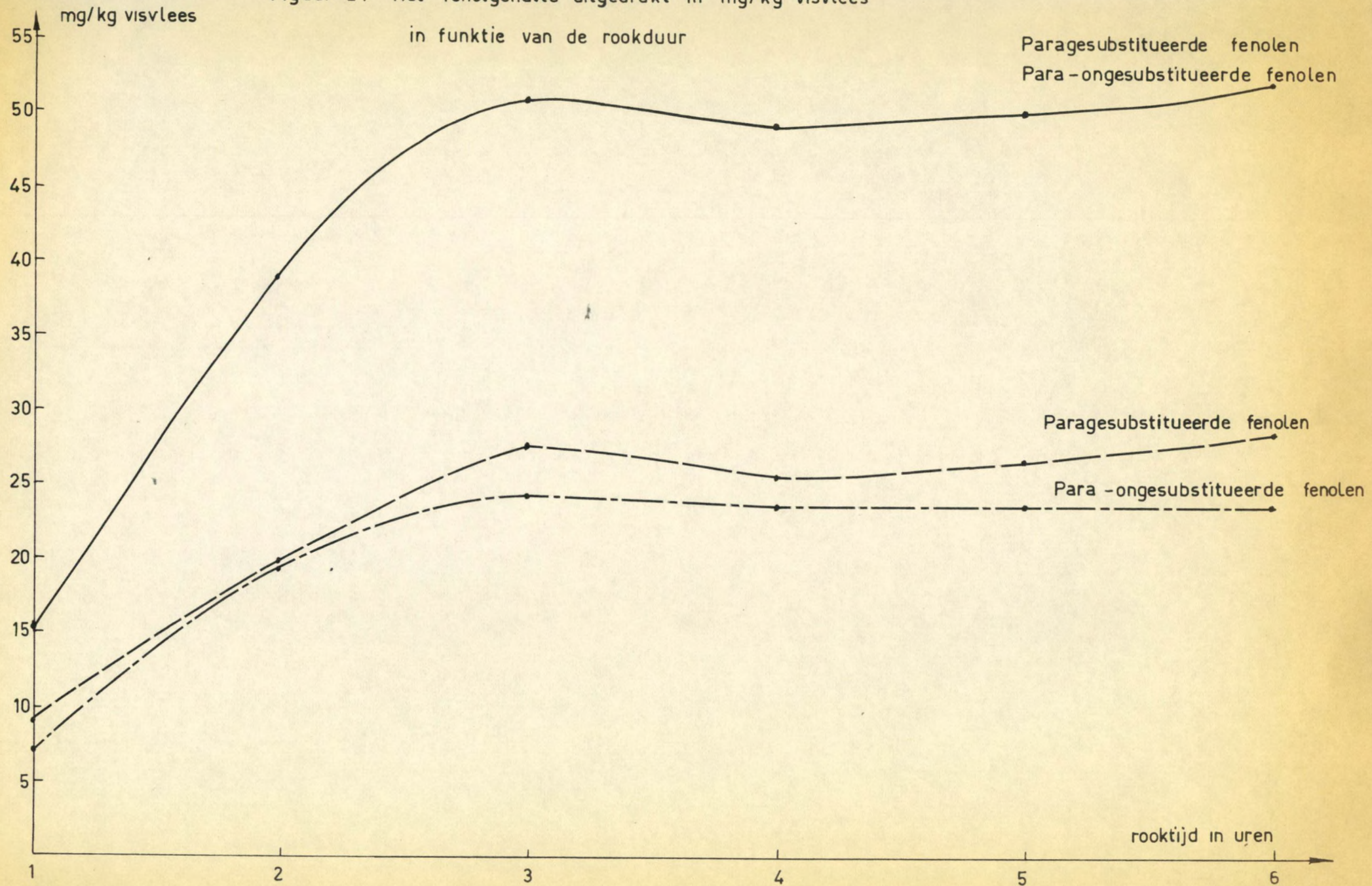
Tabel 2. - Gehalte aan fenolen, uitgedrukt in mg/kg visvlees in functie van de rooktijd.

Rooktijd in uren	Para-gesubstitueerde + para-ongesubstitueerde fenolen	Para-ongesubstitueerde	Para-gesubstitueerde
1	16,6	7,32	9,28
2	39,4	19,63	19,77
3	51	24,31	27,69
4	49	23,44	25,56
5	50	23,43	26,60
6	52	23,43	28,57

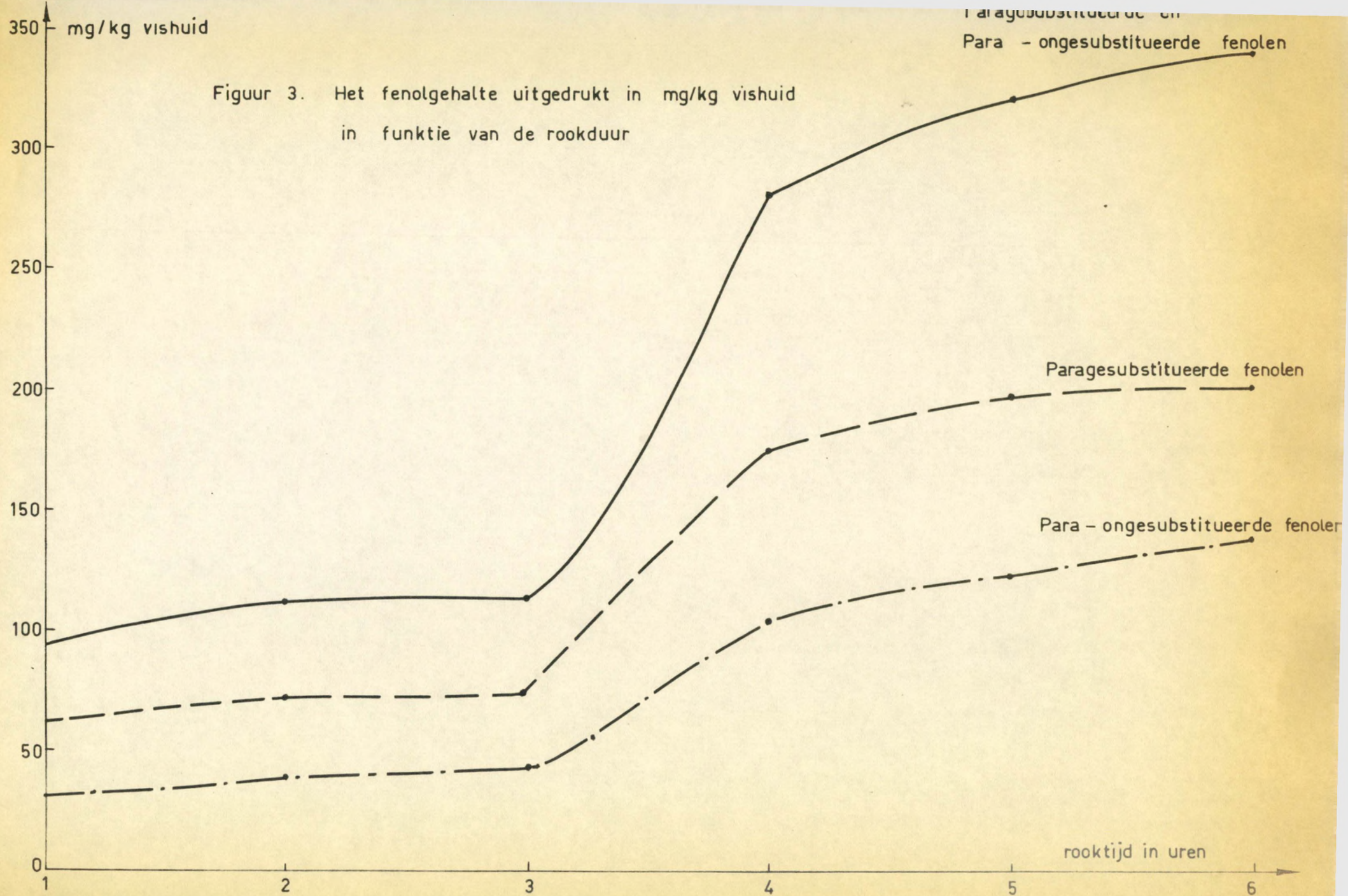


Figuur 2. Het fenolgehalte uitgedrukt in mg/kg visvlees

in functie van de rookduur









Tabel 3. - Gehalte aan fenolen, uitgedrukt in mg/kg vishuid in functie van de rooktijd.

Rooktijd in uren	Para- gesubstitueerde + para- ongesubstitueerde fenolen	Para- ongesubstitueerde	Para- gesubstitueerde
1	94,6	32,27	62,33
2	110	39,12	70,88
3	119	43,03	75,97
4	280	104,64	175,36
5	320	123,22	196,78
6	340	138,88	201,12

De fenolafzetting in het visvlees trad tussen het eerste en derde uur op. Na een rooktijd van drie uur bleef het fenolgehalte konstant. Dit wijst er op dat de huid van de haring is dichtgeslagen, waardoor geen fenolafzetting in het visvlees nog mogelijk is.

In het begin van het rookproces is de huid voldoende vochtig, zodat de fenolen door diffusie in het visvlees terechtkomen.

Wanneer het oppervlaktewater verdwenen is, m. a. w. de huid gedroogd is, wordt het diffusieproces vishuid-visvlees stopgezet (figuur 2).

De fenolafzetting op de huid bleef konstant gedurende de eerste drie uur van het rookproces.

Op het ogenblik dat de fenolafzetting in het visvlees beëindigd was (na 3 uur), werd een masale afzetting op de huid de z. g. n. kritieke fase, bekomen. Dit gebeurde tussen het derde en vierde uur van het rookproces. Verder roken werkte een geleidelijk verhoging van het fenolgehalte op de huid in de hand (figuur 3).



## 2.2. Kwaliteitsonderzoek.

Na 1, 7, 14, 21, 28, 35 dagen werden telkens zes vissen van elke partij op T.A.B., T.V.B., T.M.A. en T.B.Z. ontleed.

De resultaten zijn in de tabellen 4, 5, 6 en 7 opgenomen.

Tabel 4. - Totaal aantal bacteriën, uitgedrukt in  $\log_{10}$  per gram visvlees.

Konserveringstijd in dagen	Rooktijd in uren					
	1	2	3	4	5	6
1	3,7	3,42	3,38	3,33	3,28	3,69
7	3,98	3,87	3,86	3,82	3,74	3,74
14	4,385	4,277	4,19	4,07	3,86	3,87
21	4,375	4,56	4,63	4,75	4,54	3,98
28	4,385	4,52	4,6	4,56	4,64	4,84
35	5,43	5,63	5,56	5,52	5,63	5,74

Tabel 5. - Gehalten aan totaal vluchtige basische stikstofbestanddelen, uitgedrukt in mg N %, gedurende het bewaren bij 2°C.

Konserveringstijd in dagen	Rooktijd in uren					
	1	2	3	4	5	6
1	42	35	37,2	36,9	34,3	38,3
7	51,5	46,2	45,5	46,2	39,9	39,9
14	52,3	52	51,3	50,2	42	46,9
21	53,9	55,3	54,78	56,4	52,5	51,1
28	53,9	53,2	54,5	53,2	54,4	54,6
35	66	65,9	61,1	69,3	63	67

Tabel 6. - Gehalten aan T.M.A., uitgedrukt in mg N %, gedurende het bewaren bij 2°C.

Konservingstijd in dagen	Rooktijd in uren					
	1	2	3	4	5	6
1	10,2	8,6	8,9	8,9	8,7	9,5
7	14,3	10,5	10,6	10,7	9,8	9,7
14	15,2	14,8	14,5	14,2	11,2	11,8
21	15,35	16,2	15,8	16	15,2	14
28	15,3	15,8	15,1	15,6	15,3	15,3
35	17,5	17,9	16,9	18,5	17,2	17,8

Ten aanzien van het totaal aantal bacteriën werden geen duidelijke verschillen waargenomen voor de zes verschillende partijen (tabel 4). Het hoog percentage aan zout (7 %), dat voor de zes partijen dezelfde was, is hier de determinerende faktor voor de microbicide werking.

De fenolen blijken een ondergeschikte rol te spelen bij hardgezouten gerookte haring. Dit kwam ook duidelijk tot uiting bij de bepalingen van het trimethylamine (tabel 5) en de totaal vluchtige basische stikstofbestanddelen (tabel 6). Ook voor het T.M.A. en het T.V.B. werden geen beduidende verschillen voor de zes groepen genoteerd.

Ten aanzien van de ranzigheid werd de kwaliteitsgrens, 15 mgr malonaldehyde per kg visvlees bereikt voor de partijen die 1, 2 en 3 uur in de rook waren opgehangen.

Voor de partij die vier uur in de rook was opgehangen, was de kwaliteitsgrens verre weg nog niet bereikt. Betekenisvol is, dat deze partij juist de kritieke fase van de rookafzetting doorlopen had.



Eens de kritieke fase voorbij, hetgeen voor de partijen 4, 5 en 6 het geval was, treden geen noemenswaardige verschillen in ranzigheid meer op (tabel 7, figuur 4).

Tabel 7. - Gehalten aan malonaldehyde, uitgedrukt in mg per kg visvlees, gedurende het bewaren bij 2° C.

Konserveringstijd in dagen	Rooktijd in uren					
	1	2	3	4	5	6
1	2,27	4,09	3,64	3,27	3,39	2,7
7	7,92	4,88	4,35	4,92	5,92	4
14	12,6	9,71	9,26	8,25	8,01	7,05
21	14,5	11,4	8,1	8,9	7,5	6,6
28	17,8	16,7	14	9,4	12,3	11,5
35	19,41	18,34	14,9	13,18	11,26	11,52

### 3. SAMENVATTING.

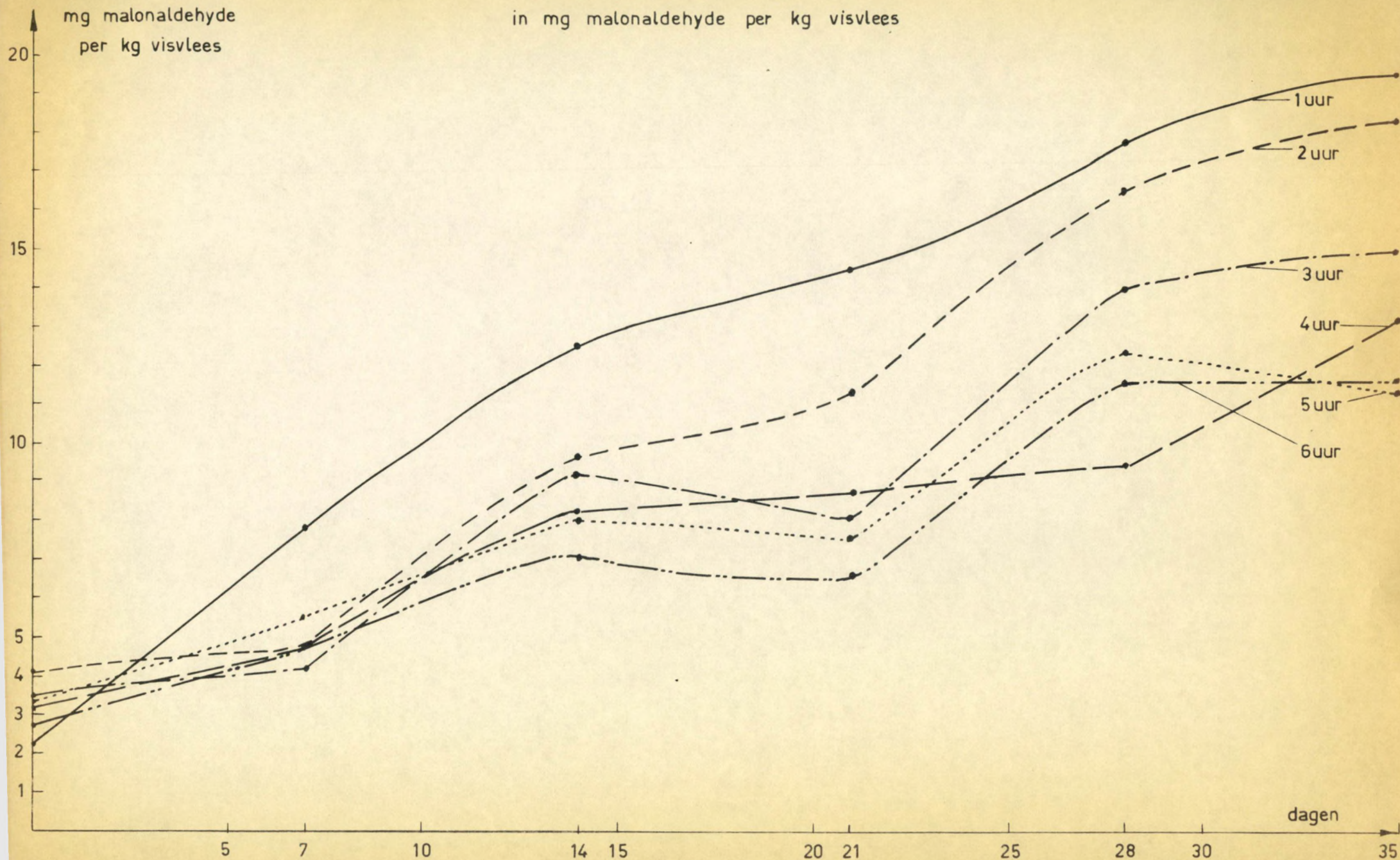
Algemeen mag worden aangenomen, dat de rookbestanddelen bij de konservering van hardgezouten gerookte haring een positieve rol uitoefenen.

De microbicide werking van de fenolen liet zich gedurende het bewaren niet gelden. Het hoge zoutgehalte was hier de determinerende faktor.

De antioxidatieve werking kwam echter wel duidelijk tot uiting. Bij de konservering is deze beduidend na de kritieke fase in de rookafzetting.



Figuur 4. Evolutie van de gemiddelde waarden van het thiobarbituurzuurgetal  
in mg malonaldehyde per kg visvlees





LITERATUUR.

1. Kochanowski, J., *Tehnologija Mesa* 1962, sp. ed. 29-33.
2. Shewan, J.M., *Chem. & Ind.* 1945, 98-101.
3. Reports of the food investigation board, D.S.I.R., Great Britain 1953 (1954).
4. Kurko, W.I., *Mjasnaja Industrija S.S.S.R.*, 30(1), (1959), 17-18.
5. Debevere, J., Ministerie van Landbouw, Rijksstation voor Zeevisserij, Oostende, Werkgroep "Voorverpakking Vis" (I.W.O.N.L. - T.W.O.Z.), 1967.
6. Lucke, F., en Geidel, W., *Z. Lebensmittel. Unters. u. Forsch.* 70, 411 (1935).
7. Antonacopoulos, M., *Z. Lebensmittel. Unters. u. Forsch.* 113 (1960).
8. Dyer, W., (1959), *Journal of the A.O.A.C.* 42 (2), 292.
9. Tarladgis, B.G., Watts, B.M., Younathan, M.T., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 37, 44 (1960).
10. Official methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists (9th Ed.), Washington A.O.A.C. (1960).
11. Folin, F.G. en Marchall A., *Ber.* 64 (1931), 2825-2827.
12. Miller, G.L., *Anal. Chem.*, 31 (1959) 964.
13. Rieder, H.P., *Clin. Chem. Acta* 4 (1959), 733-740.
14. Snell, F.D. en Snell C.T., *Colorimetric methods of analysis*, Princeton 1953, vol. 3, 117-119, vol. IIIa, 91.

